

Zur Frage der 2 : 1 Umwandlung
des β -Carotins in Vitamin A in Gegenwart
von Organhomogenaten

Arnold Kessler

Aus dem Institut für Physiologie und Ernährung der Tiere
der Tierärztlichen Fakultät der Universität München
Vorstand: Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann

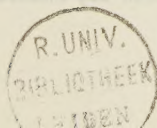
Zur Frage der 2 : 1 Umwandlung des β -Carotins in

Vitamin A in Gegenwart von Organhomogenaten

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der veterinärmedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-Universität
München

von
Arnold Kessler

München 1958



Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Professor Dr. K. Z i p f

Referent: Professor Dr. Dr. Johannes B r ü g g e m a n n

Tag der Promotion: 26. Februar 1958

Meinen lieben
Eltern



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Die vorliegende Arbeit wurde in der Zeit von April 1954 bis Mai 1955 im chemischen Laboratorium des Institutes für Physiologie und Ernährung der Tiere durchgeführt.

Herrn Professor Dr. phil. habil Walther Krauss habe ich für die Überlassung des Themas und seine Unterstützung zu danken.

Herrn Professor Dr. Dr. Johannes Brüggemann danke ich verbindlichst für die großzügige Bereitstellung von Institutsmitteln.

Inhaltsverzeichnis

	<u>Seite:</u>
I. Einleitung	1
II. Experimentelles	3
III. Ergebnisse aus Versuchen an Ratten	8
A) Leberhomogenate von Normaltieren	8
B) Dünndarmhomogenate von Normalratten	21
C) Leberhomogenate von Vitamin A-Mangelratten	23
D) Darmhomogenate von Vitamin A-Mangelratten	28
IV. Zusammenfassung	30
V. Literaturverzeichnis	31

Einleitung

Über die biologische Umwandlung des β -Carotins liegt eine beträchtliche Anzahl von Untersuchungen vor, sowohl zur Frage der Umwandlungsquote als auch des Ortes der Umwandlung. Diese widersprechen sich oft, wobei wir noch zeigen werden, daß ein Teil der Widersprüche sich durch die Methodik und die Bezugsgrößen erklären.

Für die Umwandlung des β -Carotins in Vitamin A wird im allgemeinen eine Einlagerung von zwei Wassermolekülen angenommen unter Sprengung der mittleren Doppelbindung. Verantwortlich hierfür wird ein Ferment "Carotinase" gemacht, das bisher noch nicht näher definiert wurde. Die aus der biologischen Wirksamkeit im Fütterungsversuch abgeleitete Bildung von ein Vitamin A je ein Molekül β -Carotin (biologische Wirksamkeit) (1) sagt nichts aus, da der Bezug auf das eingesetzte β -Carotin schon an und für sich im Sinne des Mechanismus falsch ist. Es bedeutet nur, daß im statistischen Mittel 50 % des eingesetzten Carotins andere Reaktionen eingehen, bzw., wenn schon der richtige Umsatz erfolgt, von dem gebildeten Vitamin A ein beträchtlicher Teil wirkungslos reagiert.

Dagegen gelang es KOEHN (2) auch im Fütterungsversuch unter Verwendung von Tocopherol als Antioxydant, eine 2 : 1 Umwandlung nachzuweisen. Während diese Autoren prinzipiell ohne genaue Erläuterung eine Einlagerung von Wasser und direkte Bildung von Vitamin A-Alkohol annehmen, glaubt MORTON (3), eine Oxydation zu Vitamin A-Aldehyd mit nachfolgender Reduktion angeben zu können. Nun ist allerdings der Versuch von MORTON ebenfalls nicht eindeutig durchgeführt, weil er Vitamin A-Aldehyd verwendet und lediglich eigentlich dessen Reduktion zeigt, die gar nicht bezweifelt werden kann.

Nun gibt es aber einen rein theoretischen Grund, der die Annahme von MORTON nahelegt, wobei allerdings der eigentliche Nachweis von Vitamin A-Aldehyd wegen der schnellen Reduktion im biologischen System schwer fallen dürfte.

Eine hydrolytische Spaltung könnte nur die π -Bindung reagieren lassen. Für eine Spaltung der restierenden σ -Bindung muß ein oxydierendes System auftreten, wie ja auch im Stoffwechsel bekannt ist, daß diese Bindung nur eigentlich oxydativ gespalten werden kann (Desmolasen). Somit erscheint von vornherein ein oxydativer Mechanismus an der zentralen Doppelbindung nahelegend. Es ist allerdings wegen der Resonanz des Systems nicht unter allen

Bedingungen anzunehmen, daß nur die oxydative Spaltung in der Mitte eintreten kann, wenn auch die mittlere Bindung gegebenenfalls eine gewisse Labilität zeigen könnte. Die chemische Spaltung geht über eine Oxydation, wobei mehr oder weniger Vitamin A-Aldehyd auftritt (4). Wir werden auf diese Frage noch zurückkommen.

Zur Frage des Ortes werden Leber und Darm, bzw. Leber oder Darm (5) angegeben, aber es ist nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen, ob nicht andere Organe auch einen Effekt zeigen können.

Da nur reine "Fütterungsversuche", so wertvoll sie biologisch und medizinisch sind, keinen eindeutigen Beweis für einen Mechanismus geben können, worauf wir noch kurz eingehen werden, haben wir sowohl bei der Frage des Mechanismus als auch des möglichen Ortes auf den physiologisch berechtigten Fütterungsversuch verzichtet und *in vitro* mit Leber- und Darmhomogenaten von Ratten unter Zugabe von alltrans- β -Carotin gearbeitet. Um das Bild zu vervollständigen, wurden sowohl normale als auch Vitamin A-Mangeltiere verwendet.

Wir sind uns der Einwände von physiologischer Seite sehr wohl bewußt, sehen aber zur Beantwortung der Frage nach dem tatsächlichen Umwandlungsverhältnis von β -Carotin in Vitamin A durch enzymatische Spaltung von β -Carotin zur Zeit keinen anderen Weg als den *in vitro* Versuch.

II. Experimentelles

1) Die zur Herstellung des Leber-Darmhomogenates verwendeten Tiere waren Albinoratten mit einem Durchschnittsgewicht über 70 g. Diese eignen sich für unsere Zwecke gut, da ihre Aufzucht einfach und am wenigsten kostspielig ist. Ein Teil dieser Tiere, im folgenden als "normal" bezeichnet, wurden mit carotinhaltiger Kost ernährt, so daß ein Mangel an Vitamin A nicht festzustellen war. Bei den im folgenden als Mangelratten bezeichneten Tieren wurde mit einer in unserem Institut verwendeten Mangelkost gearbeitet. Diese bestand aus

- 70 % Weizennachmahl
- 10 % Magermilchpulver
- 8 % Zentrifugenschlamm
- 4 % Trockenhefe
- 5 % Olivenöl
- 3 % Salz (60 % Ramikal, 20 % NaCl
20 % Mineralstandard D.L.G.I)

und ist mit Einzelheiten des Verfahrens von WOELKI (22) beschrieben.

Die Leber wurde durch Zerreiben in einem Mörser in ein möglichst feines Homogenat umgewandelt. Wir haben auf die Verwendung von Quarzsand verzichtet, um nicht Unsicherheiten in den Versuch zu bringen. Bei Darm (Dünndarm) wurde nach Ausspülen des Inhaltes mit Ringerlösung in der gleichen Weise homogenisiert.

Das Homogenat wurde mit Ringerlösung (pH 7,5) bei 37° C im allgemeinen während einer Stunde unter Schütteln inkubiert. Die Zeit zwischen Tötung und Versuchsbeginn war etwa 30 Minuten.

β -Carotin wurde in Äthylalkohol bzw. in Paraffinöl gelöst und dem Versuchsansatz zugegeben. Die Carotinkonzentrationen waren bewußt in physiologischen Dosen eingestellt ($5 \cdot 10^{-8}$ bis $1 \cdot 10^{-7}$ Mole β -Carotin für je ein Gramm Homogenat in 3 ml Ringerlösung). Es wurde darauf geachtet, daß diese β -Carotinkonzentration in 0,5 ml Lösungsmittel enthalten war, so daß die Zugabe der Carotinlösung keine wesentliche Änderung des Untersuchungssystems ergab.

Da durch die Zugabe der β -Carotinlösung zu dem wässrigen Versuchsansatz mit

Ausfüllung des Carotins gerecht werden mußte, wurde als oberflächenaktive Substanz 1 ml einer 10 ng%-igen Alkylsulfatlösung je 3 ml Ringerlösung zugefügt.

Es wurden jeweils nebeneinander von dem gleichen Homogenat untersucht: Ansatz ohne Carotin, Ansatz mit Carotin und in mehreren Versuchen reine Ringerlösung mit Carotin.

Als Gasatmosphäre diente N_2 oder Luft. Ein Unterschied war nicht festzustellen.

2) Bestimmung von Vitamin A

Zur Ermittlung des Gehaltes an gebildetem Vitamin A und β -Carotin wurde das jeweilige Homogenat einer Hydrolyse und einer Chromatographie unterworfen, wie sie von Brüggemann, Krauss und Tiews (18) beschrieben ist. Die zur Messung gelangende Chloroformlösung betrug 10 ml. Diese wurde im Zeiss-Spektographen M4Q einer Bestimmung des Gesamtspektrums zwischen 300 und 500 nm⁺⁾ unterworfen. Das Maximum für Vitamin A in Chloroform liegt nach Messungen von KRAUSS und GRUND (7) bei 334 nm und das Hauptmaximum der dreigeteilten langwelligen Hauptabsorption des all-trans- β -Carotins bei 460 - 462 nm. Auf diesem Wege wird das noch vorhandene β -Carotin bestimmt. Ein Eingendepot der Leber an β -Carotin wurde, sowohl bei Mangel- als auch Normaltieren nicht gefunden. Das gebildete Vitamin A erhält man aus einer Differenzbestimmung der Extinktion bei 334 nm des Versuchsansatzes ohne β -Carotin und mit β -Carotin. Insoweit nicht gleiche Gewichte an Homogenat genommen waren, wurde auf ein Gramm umgerechnet.

Es wurde bei der Bestimmung auf die von BESSEY (19) eingeführte Zerstörung von Vitamin A durch Bestrahlung mit UV verzichtet. Diese Methode ermittelt bekanntlich zum Ausschluß der Eiweißabsorptionen bei 320 nm zunächst die Gesamtaborption und dann die Restabsorption nach Bestrahlung mit UV. Es ist allerdings dann die große Schwierigkeit, festzustellen, ob ausser Vitamin A nicht noch andere Substanzen photochemisch zerstört werden, so daß die Extinktionsdifferenzbildung und der Rückschluß auf Vitamin A nicht zwingend ist. Ein Bezug auf ein innerhalb der Fehlergrenze gleiches Hydrolysat ohne Zusatz von β -Carotin erschien uns daher zweckentsprechender und sicherer.

Ebenso wurde auf die von MORTON und STUBBS (20) verwendete Korrekturformel für die unspezifische Absorption zwischen 310 und 350 nm verzichtet, da gegen eine allgemeine Gültigkeit dieser Korrektur beträchtliche Bedenken gel-

⁺⁾ nm = nanometer = 10^{-9} m.

tend gemacht werden können.

Als weitere Korrektur muß bei 334 nm noch die dort vorhandene Eigenabsorption des β -Carotins eingesetzt werden, die von dem in diesem Gebiet liegenden cis-peak des β -Carotins herrührt. Das verwendete all-trans- β -Carotin enthielt immer geringe Mengen von cis- β -Carotin. Hierzu wurde in dem jeweils verwendeten reinen Carotin das Verhältnis der Absorption bei 334 nm und 462 nm bestimmt und entsprechend rechnerisch für das im Versuchsansatz noch vorhandene β -Carotin eingesetzt.

Endgültig ergibt sich für Vitamin A:

$$E_A \text{ geb.} = E_A - (E_o + E(\beta - \text{Carotin (334 nm)}))$$

Hierin sind:

E_A = die Extinktion 334 nm für den mit β -Carotin inkubierten Ansatz

$E_A \text{ geb.}$ = die Extinktion des gebildeten Vitamin A

E_o = die Extinktion 334 nm für die gleiche Gewichtsmenge Homogenat ohne β -Carotin

$E_{\beta - \text{Carotin (334 nm)}}$ = die errechnete Extinktion des β -Carotins bei 334 nm.

Die sonst störenden Eiweißeffekte bei 334 nm sind durch die Vergleichslösung, gegen die gemessen wurde, ausgeschaltet. Diese enthielt genau gleich behandeltes Homogenat in gleicher Menge ohne β -Carotin. E ist für 1 cm angegeben.

Die Errechnung der Konzentrationen erfolgte mit dem dekadischen molaren Extinktionskoeffizienten für Vitamin A (334 nm) = $5,00 \cdot 10^4 \text{ Mol}^{-1} \text{ Lit. cm}^{-1}$
 β -Carotin (462 nm) = $1,30 \cdot 10^5 \text{ Mol}^{-1} \text{ Lit. cm}^{-1}$

Getrennte Versuche zeigten, daß bei der Hydrolyse keine nennenswerte β -Carotinerstörung eintritt.

Als größter Fehler kann wegen der Differenzmessung für Vitamin A $\sim 25\%$, für β -Carotin (umgesetzt) $\sim 25\%$ angenommen werden. Die jeweils aus den Extinktionswerten ermittelten Konzentrationen sind mit 10 zu multiplizieren, da die Originalsubstanz sich in 10 ml Chloroform befand. In einigen Fällen haben wir auch die CARR-PRICE-Reaktion durchgeführt unter Berücksichtigung der von Brügge mann, Krauss und Tiew s (8) angegebenen verfahrenstechnischen Vorschriften, sowie die von BRÜGGEMANN, KRAUSS und

TIIEWS (9) angegebene Reaktion mit FeCl_3 .

Wir können hier summarisch feststellen, daß der Ausgang dieser Reaktion für Vitamin A sprach, da bei der durchgeführten CARR-PRICE-Reaktion in der modifizierten Form das Hauptabsorptionsmaximum bei 620 nm lag. Vitamin A-Aldehyd konnte nicht zugegen sein, weil sonst das Maximum bei 660 nm liegen müßte. Zum anderen ergab die Ausmessung der Halbwertszeit des Extinktionsabfalles bei 620 nm mit einem CP-Reagens, das 2 % Essigsäureanhydrid enthielt, 70 sec. Diese Halbwertszeit ist unter den gegebenen Bedingungen charakteristisch für Vitamin A-Alkohol. Es konnte auch nicht eine Spaltung des β -Carotins in zwei Kohlenwasserstoffe mit 5 bzw. 6 Konjugenbindungen eingetreten sein, da dann zwar ein Maximum bei 620 nm auftreten könnte, die Halbwertszeit jedoch größer sein müßte, wie schon aus allgemeinen Messungen an homologen Polyenen von KRAUSS und GRUND (7) hervorgeht.

Wir müssen jedoch darauf hinweisen, daß die Übertragung der hier gegebenen Daten für die Halbwertszeit nicht ohne weiteres auf beliebige Systeme möglich ist. Die Weiterreaktion des Komplexes (Vitamin A-Komplexpартner) - gemessen durch die zeitliche Extinktionsabnahme - ist eine Reaktion zweiter Ordnung und somit die Halbwertszeit konzentrationsabhängig. Wir konnten in der Zwischenzeit zeigen, daß die Geschwindigkeitskonstante der Zerfallsreaktion

$$\frac{-d \text{Komplex}}{dt} = k_1 (\text{Komplex})^2$$

bei gegebenem Komplexpартner von der Natur des Polyens und seiner π -Elektronenzahl abhängt. Variiert man den anorganischen Teil des Komplexpартners, so können ebenfalls beträchtliche Änderungen der Halbwertszeit eintreten. Wir müssen dazu auf die Arbeiten von KRAUSS und GRUND (7) sowie auf eine in Kürze erscheinende quantitative Untersuchung von KRAUSS und CASPERS (10) verweisen.

Hieraus ergibt sich für Vitamin A-Acetat in Chloroform $k \sim 5,6 \cdot 10^2 \text{ Mol}^{-1} \text{ Lit sec}^{-1}$, für Vitamin A-Aldehyd $\sim 2,5 \cdot 10^2 \text{ Mol}^{-1} \text{ Lit. sec}^{-1}$, für Phenylundecapentaenal $\sim 0,25 \text{ Mol}^{-1} \text{ Lit sec}^{-1}$ unter Verwendung von $\text{CH}_3\text{CO}^+\text{SbCl}_6^-$ als Komplexpартner. Die Werte gelten auch für CARR-PRICE-Reagens in Gegenwart von 2 % Essigsäureanhydrid + 2 % CH_3COCl . Die Werte für Vitamin A-Acetat stimmen weitgehend mit früheren Messungen von BRÜGGEMANN, KRAUSS und TIEWS überein (11).

Man könnte die Möglichkeit einer cis-Isomerisierung des all-trans- β -Carotins in Gegenwart des Homogenates prinzipiell als möglich erachten. Dies

würde eine Verstärkung der Bande bei 340 nm ergeben und könnte Vitamin A vortäuschen. Der Ausfall der Reaktionen im polarisierten Zustand schließt aber die Möglichkeit aus.

Wir haben im allgemeinen bei den folgenden Messungen mit dem UV-Spektrum gearbeitet, weil wir möglichst geringe Eingriffe in das System machen wollten. Ausserdem haben wir ja durch die Messung gegen eine gleiche aufgearbeitete Homogenatlösung die Fehler des Eiweisses, die sonst bei 334 nm auftreten können, weitgehend ausgeschaltet. Es kann jedoch gesagt werden, daß die Messung mit einer LEWIS-Säure (z.B. geeignetes Metallhalogenid) als Komplexpartner bei 620 nm und einem üblichen Colorimeter genau so gut möglich ist. Man benötigt nicht wie oft angenommen wird einen Spektrographen. Ein mit der allerdings notwendigen Kritik angewendetes colorimetrisches Verfahren ist oft günstiger als ein Spektralverfahren. Dies ist jedoch in jedem einzelnen Falle genauestens zu überlegen.

III. Ergebnisse

Die Ergebnisse sind nach den jeweiligen Organhomogenaten zusammengestellt. Es wurden zur physiologischen Vervollständigung, obgleich es mit dem eigentlichen Thema nichts direkt zu tun hatte, auch die gleichen Organhomogenate von Mangeltieren untersucht. Da Ratten (Leber, Darm) nur geringe Organgewichte (Leber ~ 7 g) haben, konnte jeweils nur ein Versuch gemacht werden. Dies hat natürlich eine größere statistische Schwankung zur Folge. Es hat sich aber gezeigt, daß diese tatsächlich nicht so groß ist, so daß sie bei genügender Tierzahl die Aussage in Frage stellen würde.

A) Leberhomogenat von Normalratten

Die Ergebnisse sind in Tabelle 1 zusammengestellt. Es sind hier als Beispiel alle Meßwerte angegeben. Bei den folgenden Tabellen sind nur die Endwerte eingetragen. Es bedeuten in Tabelle 1 die Spalten: Das Gewicht des Homogenates, die Carotinabsorption der angewendeten β -Carotininlösung (462 nm), E , E_0 die β -Carotinextinktion (462 nm) in der Chloroformlösung vor und nach dem Versuch, ΔE die Differenz (verbrauchte Menge β -Carotin). Die folgenden Spalten bedeuten die jeweiligen Molzahlen aus den Extinktionen berechnet, einmal insgesamt und dann je Gramm Homogenat. Alle Molzahlen sind für 10 ml Ausgangslösung angegeben. ϕ ist der relative Umsatz^{+) von β -Carotin. Die Spalten bei Vitamin A sind hiernach klar. Die letzte Spalte bedeutet das Verhältnis von gebildetem Vitamin A zu umgesetztem β -Carotin. In den späteren Tabellen werden nur die Endwerte angegeben. In Abb. 1 ist beispielsweise ein Spektrogramm wiedergegeben, in dem auch noch der entsprechende Versuch mit dem Darmhomogenat des gleichen Tieres angegeben ist.}

+) β -Carotin (umgesetzt)	Mol/lit. Stunde
β -Carotin (angewendet)	Mol/lit.

Tabelle 1, Leberhomogenat von Normalratten

B-Carotin (462 nm)		mit							
Lösungsmittel: Paraffinöl (Oberfl. akt. Substanz)									
Gasphase: N ₂		Versuchsdauer: 1 Stunde							
Gew.d. angew. Leber	E 1 cm	E 1 cm	ΔE	Mol 10^{-8}	Mol 10^{-8} /g	Mol 10^{-8}	Mol 10^{-8} /g	$\bar{\phi}$ rel. Umsatz B-Carotin	E 1
					umgesetzt		angewandt		
2,5	1,34	1,00	0,34	2,5	1,00	10,0	14,0	0,25	
2,0	1,07	0,83	0,24	1,8	0,90	8,0	4,0	0,22	
2,0	1,30	1,00	0,30	2,2	1,10	9,7	4,8	0,23	
2,0	1,12	0,70	0,42	3,1	1,55	8,4	4,4	0,35	
2,0	0,30	0,10	0,20	1,5	0,75	2,2	1,1	0,67	
2,0	0,44	0,25	0,19	1,4	0,70	3,3	1,7	0,41	
1,5	1,15	0,80	0,35	2,6	1,74	8,6	5,7	0,31	
1,5	0,63	0,30	0,33	2,5	1,70	4,7	3,1	0,57	
2,0	2,20	1,90	0,30	2,30	1,15	16,4	8,2	0,14	
3,0	1,40	0,60	0,80	6,0	2,00	10,5	3,5	0,57	
2,0	0,68	0,40	0,28	2,1	1,05	5,7	2,6	0,40	
2,0	1,30	0,85	0,45	3,4	1,70	9,7	4,8	0,35	

Lösungsmittel: Äthanol 96 %

Gasphase: Luft

3,0	0,65	0,15	0,50	3,7	1,20	4,9	1,63	0,75		
3,0	0,45	0,02	0,43	3,3	1,10	3,4	1,13	0,98		
3,5	0,95	0,10	0,85	6,3	1,80	7,4	2,04	0,90		
3,5	0,92	0,40	0,52	3,9	1,40	6,9	2,00	0,70		

Gasphase: N₂

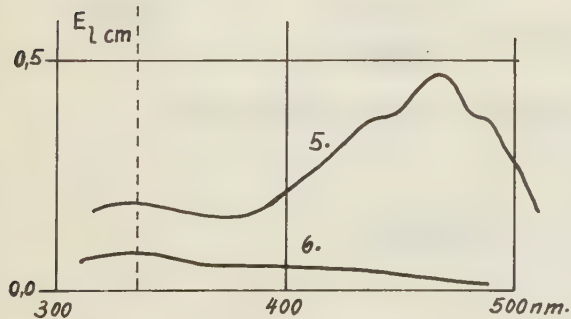
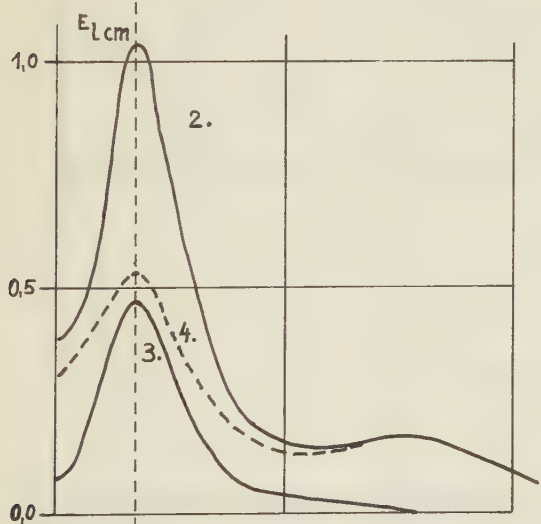
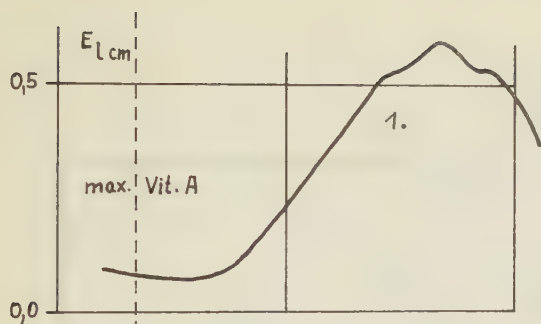
2,0	0,25	0,10	0,15	1,1	0,55	1,0	0,93	0,60		
2,0	0,70	0,40	0,30	2,2	1,10	5,2	2,60	0,42		

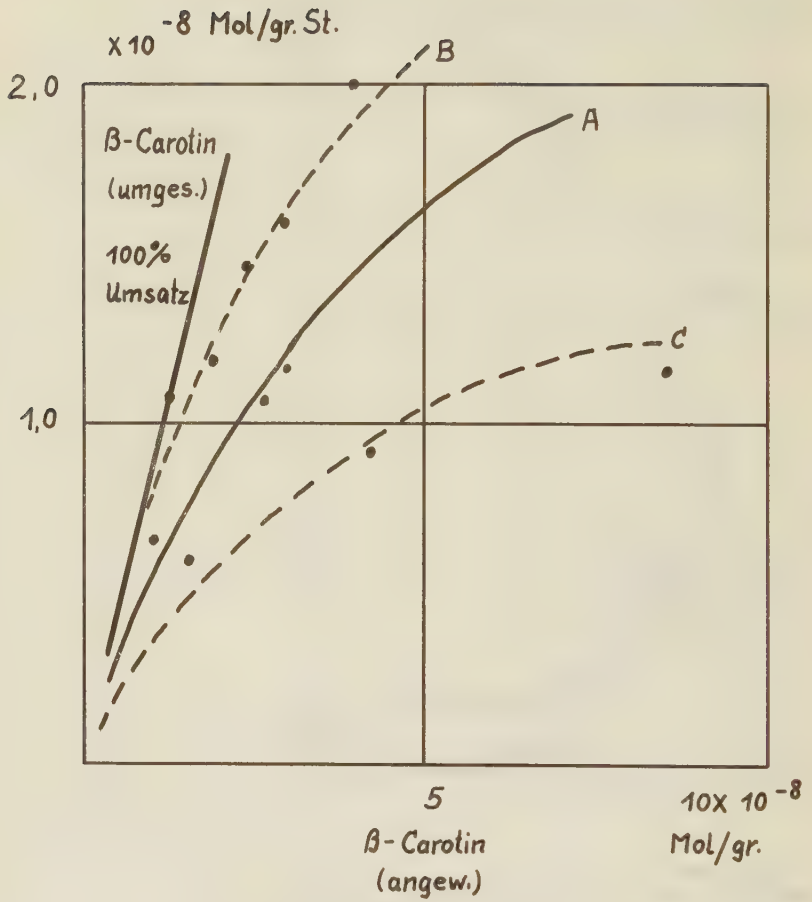
x) = Diese Werte wurden gegen eine gleichbehandelte Chloroformlösung eines gleichkonzentrierten Leberhomogenates gemessen, die übrigen Werte gegen Chloroform, sowohl für die Carotin- als auch die allein Homogenat enthaltende Lösung (E₀).

Vitamin A (334 nm)

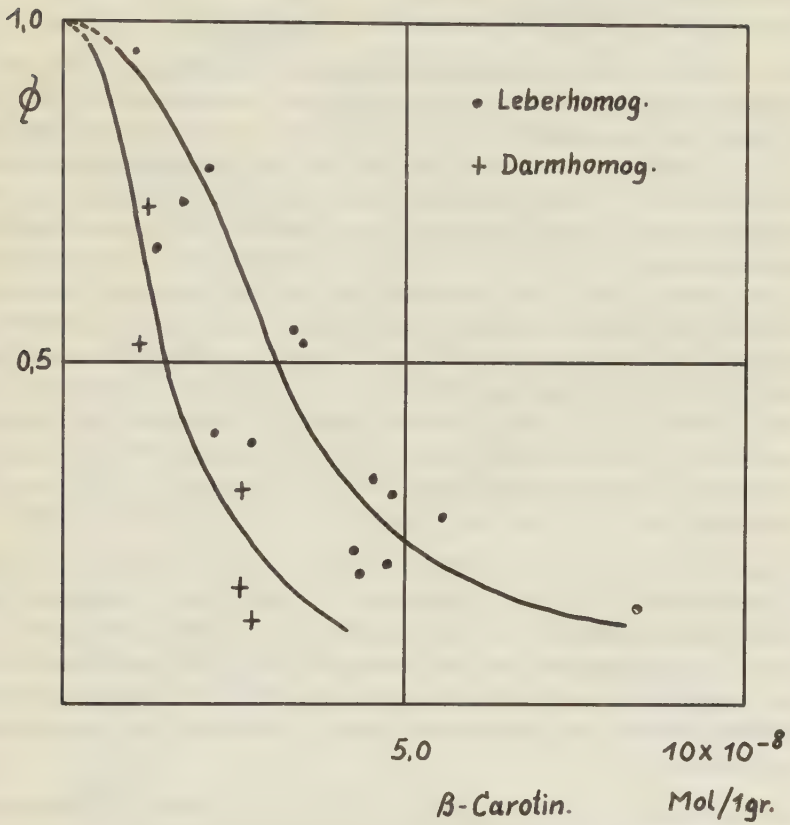
corr cm	E_0 1 cm	ΔE	$\text{Mol} \cdot 10^{-8}$	$\text{Mol} \cdot 10^{-8} / \text{g}$	<u>Vit.-A</u> <u>β-Carotin</u> (umgesetzt)
,44	1,10	0,34	6,3	2,7	2,7
,70	0,50	0,20	4,0	2,0	2,2
,00	0,70	0,30	6,8	3,0	2,6
,70	0,35	0,35	7,0	3,5	2,3
,57	0,35	0,22	4,4	2,2	2,9
		0,15 ^x	3,0	1,5	2,3
		0,26 ^x	5,2	3,4	2,0
,37	0,17	0,20	4,0	2,7	1,6
,70	0,40	0,30	6,0	3,0	2,6
		0,80 ^x	16,0	5,3	2,6
		0,20 ^x	4,0	2,0	1,9
,14	0,64	0,50	5,0	2,5	1,5
,00	0,52	0,48	9,6	3,2	2,0
		0,19	3,8	1,3	1,2
,70	0,20	0,50	10,0	2,9	1,6
,70	0,30	0,40	8,0	2,3	1,6
,78	0,66	0,12	2,4	1,2	2,2
,95	0,20	0,45	9,-	4,5	<u>2,1</u> Mittel 2,1

erten
lösung (E)





Absol. Umsatz von β -Carotin. (Leber)



Rel. Umsatz (ϕ) von β -Carotin in 1 Stunde.

Abb. 3

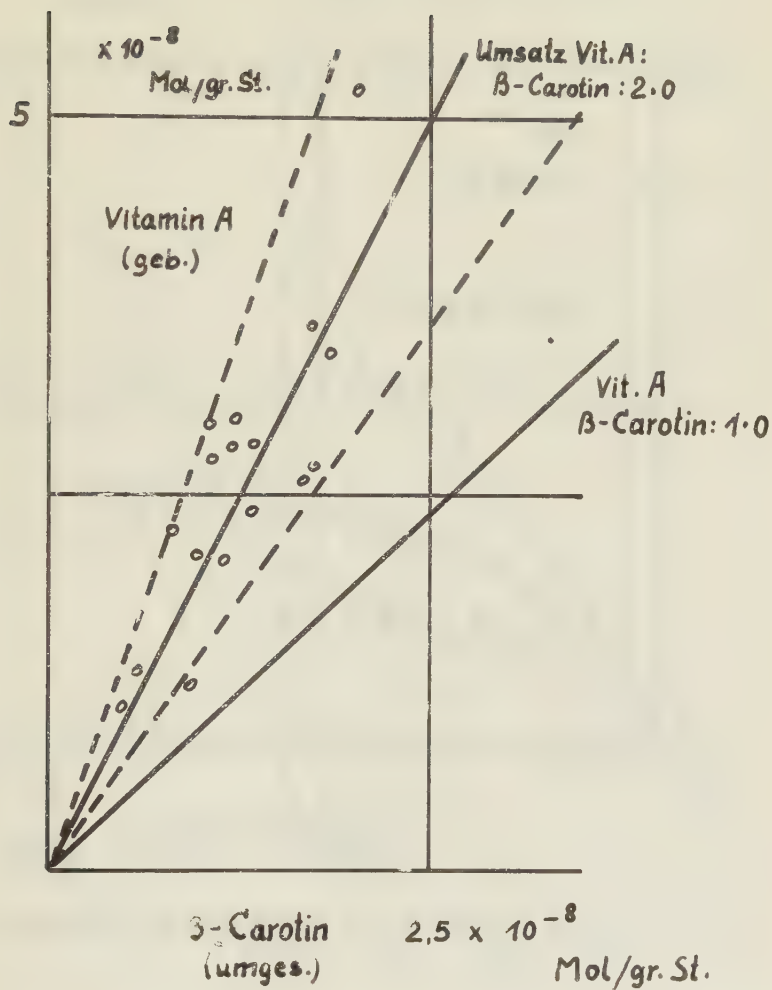
In Abb. 2 ist der Umsatz von β -Carotin in einer Stunde in Abhängigkeit von dem je Gramm Homogenat angewendetem β -Carotin angegeben. Wie nicht anders zu erwarten war, streuen die Werte. In der Kurve sind die Begrenzungen B und C eingetragen. Im Mittel wird die Abhängigkeit durch A wiedergegeben. Die Gerade für 100 % Umsatz ist ebenfalls eingetragen.

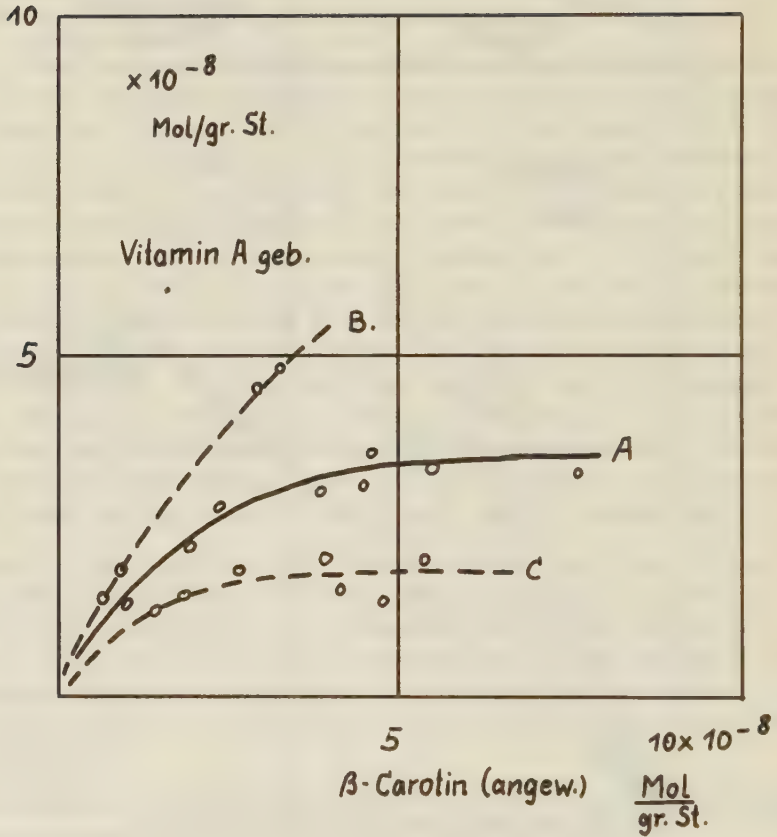
Abb. 3 zeigt den relativen Umsatz von β -Carotin in Abhängigkeit des angewandten β -Carotins. Die Kurven zeigen trotz der Schwankungen deutlich, daß der Umsatz mit steigendem Angebot an β -Carotin je Gramm Homogenat immer mehr gegen die X-Achse geneigt ist, d.h. nur bei sehr kleinen Konzentrationen β -Carotin ($\sim 10^{-8}$ Mole/g Homogenat) wird tatsächlich das Angebot in einer Stunde umgesetzt. Diese Abhängigkeit besagt, daß die Reaktion bei β -Carotinkonzentrationen $\sim 10^{-7}$ Mole/g von dieser unabhängig wird. Dies würde biologisch bedeuten, daß in der Zeiteinheit nur eine ganz bestimmte und begrenzte Menge zu 100 % umgesetzt werden kann. Man kann aus den Kurven abschätzen, daß dieser obere Grenzwert etwa $1,0 \times 10^{-8}$ Mole β -Carotin/g Leber mal Stunde ist. Dies würde pro Tag einen Grenzümsatz von $24 \cdot 10^{-8}$ Mole/g.Tag ergeben. Unter Annahme eines 50 %igen Verlustes durch Nichtresorption bzw. sekundäre Zerstörung von β -Carotin bei oraler Verabreichung entspricht dies einem Angebot von 0,2 mg β -Carotin/g.Tag oder bei 8 g Lebergewicht $\sim 1,6$ mg je Ratte, einer Menge die bekanntlich als hinreichend in der Kost erachtet wird.

Weiterhin ergibt sich aus der Tabelle, daß β -Carotin, soweit es nicht gerade zur Bildung von Vitamin A verbraucht wird, weitgehend in Gegenwart von Leberhomogenat stabilisiert wird, im Gegensatz zu Proben in Ringerlösung bei 37°C ohne Homogenat, wo nach unseren Versuchen eine weitgehende Zerstörung ohne Bildung von Vitamin A eintritt. Die Umwandlung von β -Carotin in Vitamin A erfolgt, wie die Versuche zeigen, in Gegenwart und in Abwesenheit von Sauerstoff.

Für die Bildung von Vitamin A wird nach Tabelle 1 im Mittel eine Umwandlungsquote 2 Mol Vitamin A pro 1 Mol β -Carotin (umgesetzt) gefunden.

In Abb. 4 ist die je Stunde und Gramm Homogenat gebildete Menge Vitamin A in Abhängigkeit von der umgesetzten Menge β -Carotin eingetragen. Der aus den Fehlerbreiten der Ausgangsgrößen zu errechnende maximale Fehler einer Einzelmessung ist $+ 40\%$ für das Umsatzverhältnis. Dieses ergibt sich im Mittel zu 2,1, wobei sich aus experimentellen Werten ein mittlerer Fehler der Einzelmessung von $\sim + 30\%$ und ein mittlerer Fehler des Mittelwertes von $\sim + 10\%$ ergibt, der unsere Aussagen erlaubt.





Bildung von Vitamin A in Abhängigkeit von der angewendeten Menge β -Carotin. (Leber)

Abb. 5

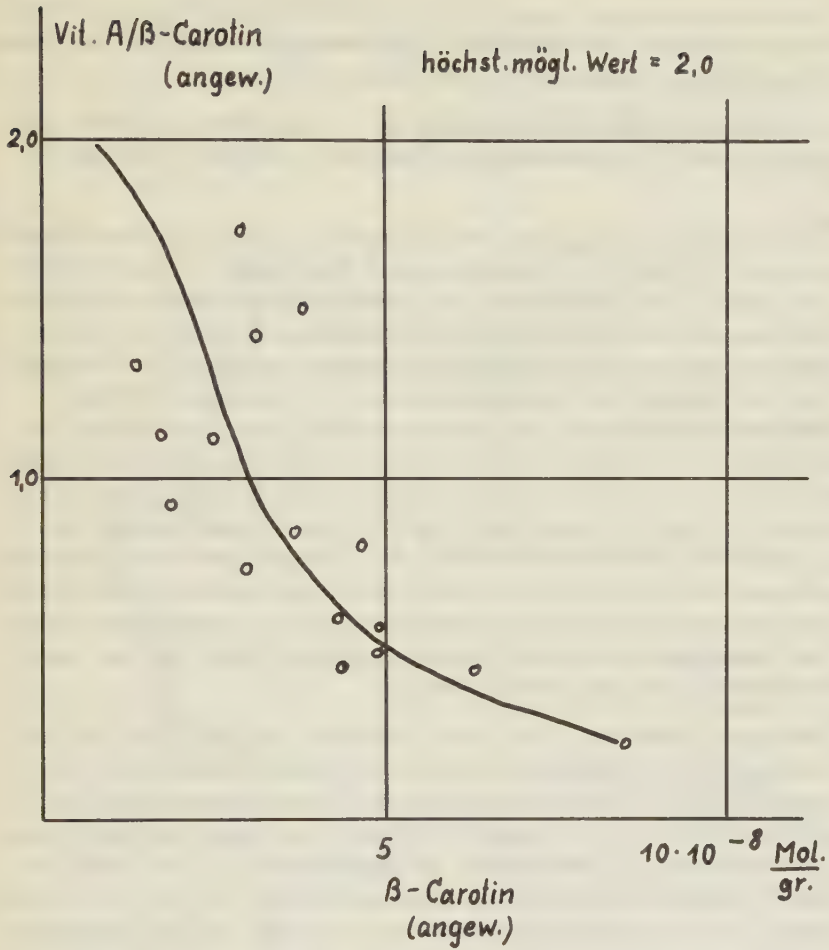


Abb. 6

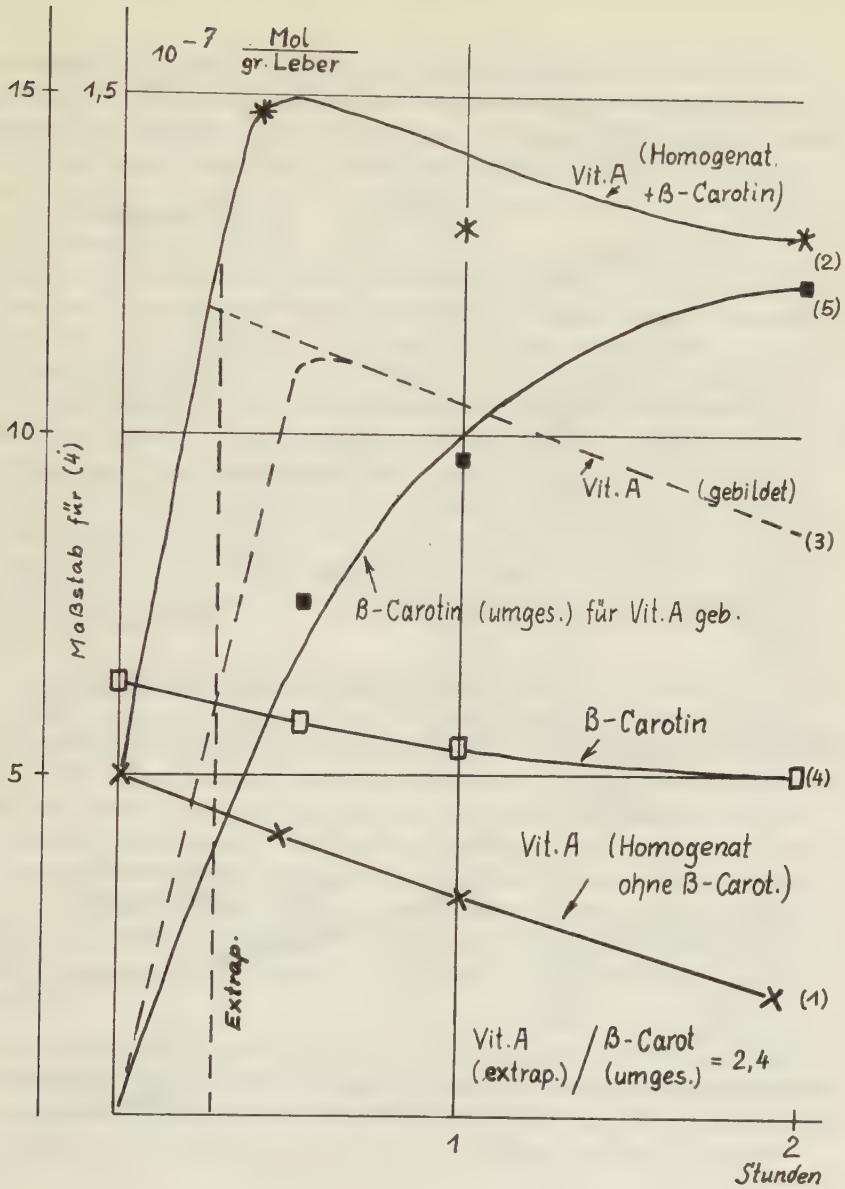
Die Punkteverteilung zeigt deutlich, daß die für den Umsatz 2,0 eingetragene Gerade den Schwerpunkt der Messungen bildet, während diejenige für das Umsatzverhältnis 1,0 weit ausserhalb der Punkteverteilung liegt.

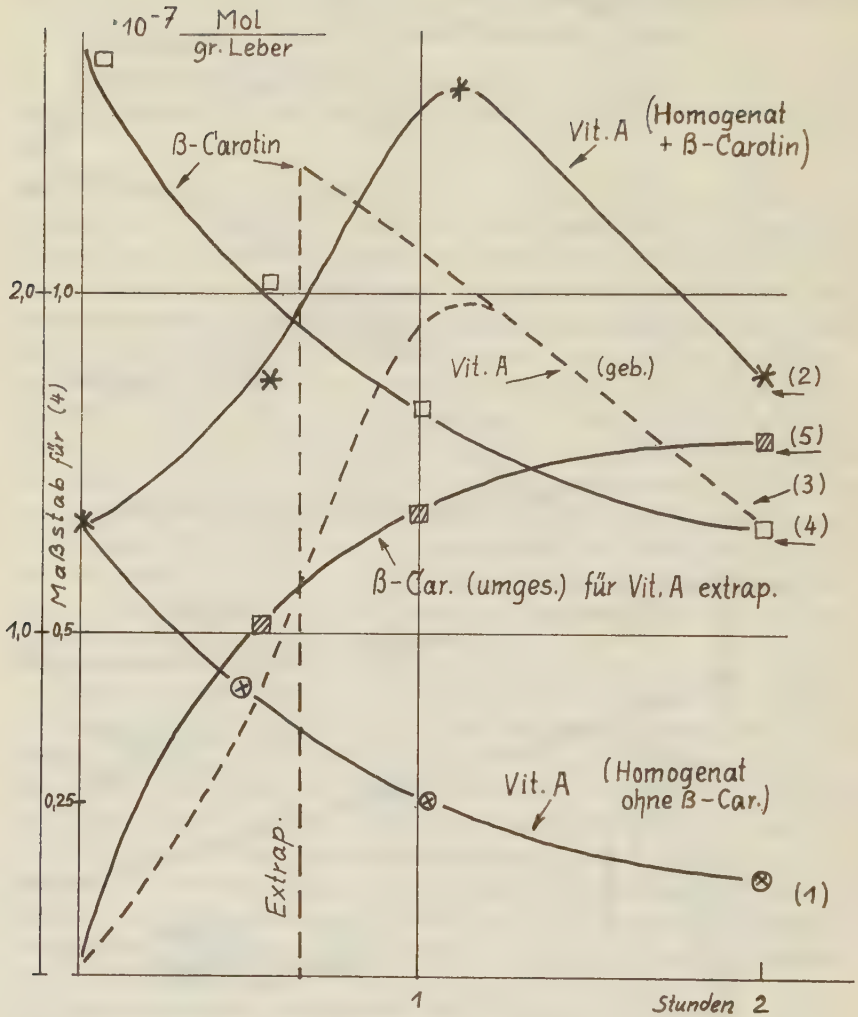
Die Abb. 5 und 6 zeigen die Abhängigkeit der in einer Stunde gebildeten Menge Vitamin A von der angewendeten Menge β -Carotin, sowie den relativen Umsatz.

Nach Abb. 6 ergibt sich deutlich, daß der Umsatz 2,0 nur bei geringem Angebot an β -Carotin $\sim 1,10 \times 10^{-8}$ Mole β -Carotin je Gramm Leber (6 mg β -Carotin) erreicht wird. Je höher das Angebot, um so mehr wird das Umwandlungsverhältnis abnehmen, da nach dem Vorstehenden das angebotene β -Carotin nicht mehr umgesetzt werden kann. Dies zeigt unseres Erachtens deutlich, wie vorsichtig man bei der Ermittlung des Umsatzverhältnisses in biologischen Versuchen sein muß. Man kann nicht auf die eingebrachte Menge β -Carotin beziehen, da in ihr auch zu Verlust gehende Anteile einschließlich der nicht verbrauchten enthalten sind. Man wird allerdings in biologischen Versuchen nicht die tatsächliche für Vitamin A umgesetzte Menge β -Carotin bestimmen können, selbst eine grobe Bilanz unter Berücksichtigung der zurückgefundenen Menge kann hier eine Aussage nicht ermöglichen, da nicht bekannt ist, welche Sekundärreaktionen noch vorkommen. Dies ist die Schwierigkeit, die man schwer umgehen kann. Man darf jedoch dann aus solchen Versuchen keine Hypothesen über den chemischen Mechanismus der Umwandlung herleiten.

Alle Messungen wurden nach einer Stunde ausgeführt, da diese Zeit sich nach Vorversuchen über die Zeitabhängigkeit als zweckmäßig erwiesen hat. In der folgenden Tabelle 7 sind zwei diesbezügliche Versuche angegeben. Es sind eingezeichnet die Kurven für den Vitamin A-Gehalt der Leber nach verschiedener Inkubationszeit in Ringerlösung. Der Ausgangswert $6,7 \times 10^{-8}$ Mole Vit. A/g Leber entspricht bei einem Gesamtlebergewicht von 8 g ~ 500 I.E. je Ratteleber, ein durchaus plausibler Wert. Kurve 2 ist die Vitamin A-Menge bei Gegenwart von β -Carotin. Kurve 3 schließlich ist die tatsächlich gebildete Menge Vitamin A (Differenz 2 - 1). Schließlich ist auch noch der Verbrauch von β -Carotin eingetragen.

Die Kurven zeigen, daß die Bildung des Vitamin A bis rund 1 Stunde ansteigend ist. Nach dem Maximum tritt ein Abfall ein, wobei sich jeweils ein stationärer Zustand zwischen Bildung und Zerfall einstellt. Der Zerfall ist etwas stärker als die Bildung. Dies kann zweierlei bedeuten. Entweder der Katalysator (Carotinase) wird mit der Zeit langsam zerstört, so daß der Verbrauch des β -Carotins, das noch immer vorhanden ist, auf Kosten anderer Se-





kundärreaktionen geht. Es besteht aber auch die Möglichkeit, daß bei einer gewissen hohen Konzentration an Vitamin A eine Hemmung durch dieses eintritt. Man hätte dies gegebenenfalls durch Zugaben von Vitamin A entscheiden können. Diese Frage stand jedoch nicht zur Diskussion und ihre Beantwortung würde eine eigene Arbeit bedeuten, so daß sie in diesem Rahmen nicht behandelt wurde.

Berücksichtigt man den Einfluß des eintretenden Zerfalles auf die Kurve 3, so kann man extrapolatorisch (wie dort angedeutet "Extrapolation") das Maximum der Bildung zu $1,2 \times 10^{-7}$ Mole Vitamin A in 40 min errechnen. Der entsprechende Umsatz an β -Carotin in dieser Zeit bei dem Versuch wäre $5,5 \times 10^{-8}$ Mole/g Leber und somit das Umsatzverhältnis Vitamin A/ β -Carotin 2,1, während sich direkt für eine Stunde 1,4 errechnet. Für die Kurve 7 b ergibt sich extrapolatorisch entsprechend für 40 min Vitamin A (gebildet) $1,15 \times 10^{-7}$ Mole, β -Carotin (umgesetzt) 6×10^{-8} Mole und somit das Verhältnis 1,9, während sich für eine Stunde direkt 1,1 ergibt. Wir haben hier eine extrem liegende Kurve mitverwendet. Im allgemeinen liegen die Werte wie Tabelle 1 zeigt, wesentlich besser, so daß der Umwandlungsfaktor 2,0 im Mittel richtig ist.

Die letzteren Versuche zeigen jedoch wie vorsichtig man bei solchen Aussagen sein muß. Je nachdem ob der Weiterzerfall des Vitamins A schnell oder langsam im Verhältnis zur Bildung aus β -Carotin ist, werden sich die Werte ändern. Am günstigsten ist es natürlich, wenn die Bildungsgeschwindigkeit groß gegen die Zerfallsgeschwindigkeit ist und die Messungen selbst sehr in der Nähe des Maximums gemacht werden und nicht weit im abfallenden Ast. Bei uns war nach einer Stunde im allgemeinen der günstigste Meßpunkt, daher wurden auch mit relativ geringer Schwankung des Mittelwertes das Verhältnis 2,0 erhalten. Von NIESAR und HUBER (21) an Rinderlebern ermittelte Umsatzverhältnisse lassen ebenfalls die Annahme einer Spaltung von 1 β -Carotin in 2 Vitamin A zu.

Da die chemische Oxydation z.B. mit H_2O_2 und Osmiumtetroxyd (4) u.a. zu Vitamin A-Aldehyd führt, möchten wir ebenfalls und in Übereinstimmung mit MORTON und Mitarbeitern einen oxydativ-fermentativen Mechanismus über Vitamin A-Aldehyd annehmen, der seinerseits sehr schnell zu Vitamin A-Alkohol reduziert wird.

Zusammenfassend zu diesem Kapitel ist festzustellen:

- 1) Die Spaltung des β -Carotins erfolgt symmetrisch mit einem Verhältnis 2 Vitamin A : 1 β -Carotin.

- 2) Je Gramm Leberhomogenat kann nur bis zu einem Grenzwert von 10^{-8} Mole β -Carotin 100 % gespalten werden. Für β -Carotin $> 10^{-7}$ Mole/g Leber wird der relative Umsatz immer geringer, um bei $\sim 10^{-7}$ Mole/g Leber nur noch 10 % Umsatz je Stunde zu ergeben.
- 3) Das Maximum der Vitamin A-Bildung wird bei Leberhomogenat und Ringerlösung bei 37°C in längstens einer Stunde erreicht. Es findet gleichzeitig ein Zerfall statt. Die für eine Bildung ohne Zerfall extrapolierten Werte ergeben ebenfalls das Bildungsverhältnis 2 Vitamin A/1 β -Carotin.
- 4) Der β -Carotinumsatz selbst nähert sich bei zwei Stunden einem Grenzwert. Dies kann nur bedeuten, daß dort wahrscheinlich das entsprechende Enzym weitgehend inaktiviert wurde. Dies ist nicht unwahrscheinlich, weil kein lebendes Gewebe mehr vorhanden ist. Von WESTERMAYER (15) wurde früher schon festgestellt, daß man auch oberhalb einer Stunde nach Tötung Lebergewebe im allgemeinen einen geringen Atmungsquotienten hat. Wenn auch in unserem Falle Sauerstoff nicht ohne weiteres notwendig zu sein scheint, so ist doch der Vergleich insoweit erlaubt, als der Atmungsquotient eine weitgehende Veränderung des Systems oberhalb einer Stunde zeigt.
- 5) Nach der Lage der UV-Adsorption dürfte es sich bei dem gebildeten Vitamin A um die all-trans-Form handeln, da die übliche cis-Form (Neo-Vitamin A) in Chloroform bei 336 nm absorbiert gegenüber λ_{max} bei all-trans Vitamin A 332,5 nm.

B) Dünndarmhomogenat von Normaltieren

Die Versuche mit Dünndarmhomogenat sind in Tabelle 2 zusammengestellt.

Tabelle 2

β -Carotin -8 Mole 10 angewendet je Gramm Homo- genat	β -Carotin -8 Mole 10 umgesetzt je Gramm Homoge- nat und Stunde	Relativer Umsatz β -Carotin %	Vit. A -8 Mole 10 gebildet je Gramm Homo- genat u. St.	Vit A/ β -Carotin
0,23	0,22	1,00	0,00	0,00
0,27	0,27	1,00	0,00	0,00
0,37	0,37	1,00	0,00	0,00
0,37	0,22	0,59	0,00	0,00
1,22	0,90	0,74	0,50	0,56
1,10	0,60	0,55	0,80	1,30
1,68	0,84	0,50	0,00	0,00
2,40	0,60	0,25	0,50	0,83
2,40	0,60	0,25	0,30	0,50
2,40	0,48	0,20	0,00	0,00
2,78	0,93	0,33	0,80	0,86

Der Umsatz von β -Carotin ist hier prinzipiell identisch demjenigen an Leber (vergl. Abb. 3). Dagegen ist eine sichere Vitamin A-Bildung nicht zu erkennen. Auf jeden Fall liegt die Quote wesentlich tiefer als bei der Leber. Würde man einen Mittelwert nehmen, was allerdings eigentlich nicht erlaubt ist, so ergibt sich $\sim 0,37$. Aber auch dieser Wert zeigt an, daß eine beträchtliche sekundäre Zerstörung eintritt. Somit ergeben die Darmversuche in vitro keinen Hinweis, daß dieses Organ bevorzugt für die Spaltung von β -Carotin ist.

Die bisherigen Versuche, die den Darm als bevorzugtes Organ für die Spaltung in vivo angeben, wurden nicht auf umgesetztes β -Carotin bezogen. Wir finden ja auch bei uns, daß manchmal eine Spaltung eintritt, jedoch wesentlich schwächer als bei Leber. Nun sind aber alle bisherigen Versuche weitge-

hend Fütterungsversuche, bzw. stellen die Gehalte an Vitamin A in verschiedenen Organen fest. So zeigen MORTON und Mitarbeiter (16) bei Dorschen, daß der Gehalt an Vitamin A im Darm höher ist als in der Leber. Aber auch hieraus ist der Schluß auf den Darm als Bildungsort nicht ohne weiteres möglich.

Wir wollen kurz auf einen Versuch von THOMPSON an Küken (12) eingehen. Wir verwenden Versuche nach Tabelle 11 der Arbeit. Es sind in Tabelle 3 die Spalten in Mol geschrieben. Sie geben an: angewendetes β -Carotin, wiedergefundenes β -Carotin (walls and contents), umgesetztes β -Carotin, Vitamin A gefunden in Darmwand und Inhalt, sowie das Verhältnis Vitamin A / β -Carotin (umgesetzt).

Tabelle 3

β -Carotin angewendet 10^{-6} Mole	β -Carotin gefunden total 10^{-6} Mole	β -Carotin umgesetzt 10^{-6} Mole	Vitamin A total 10^{-8} Mole	Vit. A/ β -Caro- tin
8,00	2,00	6,00	3,00	5,0 . 10^{-3}
8,00	2,00	5,00	7,00	14,0 . 10^{-2}
8,00	5,00	3,00	6,00	2,0 . 10^{-2}
5,00	3,40	1,60	2,30	1,4 . 10^{-2}
5,00	3,30	1,70	2,70	1,6 . 10^{-2}

Die Umsatzquote zu Vitamin A ist also sehr schlecht. Selbst wenn man annimmt, daß 50 % des β -Carotins bei dem Fütterungsversuch sekundär zerstört wurden, so bleiben die Umsätze noch zu klein. Es werden höchstens 3 % des umgewandelten β -Carotins als Vitamin A wiedergefunden, 97 % gehen andere Reaktionen ein. Ob man hieraus den Schluß ziehen darf, daß der Darm ein wesentliches oder sogar das Umwandlungsorgan ist, erscheint doch mehr als fraglich. Wir haben nur eine Versuchstabelle umgerechnet und betrachtet, könnten aber das Material aus weiteren Angaben des Verfassers noch vermehren. ROSENBERG und SOBEL (17) haben ebenfalls einige Rattenversuche veröffentlicht, aus denen sie eine bevorzugte Umwandlung im Darm erkennen wollen. Sie geben hierbei $150 \mu\text{g}$ β -Carotin für den gesamten Dünndarm mit Inhalt und lassen die Reaktion bei 40°C über zwei Stunden laufen. Aus den 11 angegebenen Versuchen finden sie im Mittel eine Bildung von $4,24 \mu\text{g}$ Vitamin A. Leider geben sie

nicht an, wieviel β -Carotin tatsächlich umgesetzt wurde. Diese Größe wäre aber von grundlegender Bedeutung. Legen wir einmal unsere Versuche zugrunde und rechnen zurück, so kann man vielleicht doch einiges ersehen. Schätzen wir das Gewicht von Darm und Inhalt hier auf 5 g, so ergibt sich ein Angebot von $6 \cdot 10^{-8}$ Mole β -Carotin je Gramm. Nehmen wir hierbei gemäß unseren Versuchen einen tatsächlichen Umsatz von 20 % an, so wären $6 \cdot 10^{-9}$ Mole β -Carotin/g umgesetzt. Dies entspricht nun dem gefundenen Wert $3 \cdot 10^{-9}$ Mole Vitamin A/g.

Die Umsatzquote Vitamin A / β -Carotin wäre also 0,50 d.h. recht ungünstig. Wir wissen nun nicht, wieviel Versuche tatsächlich angesetzt wurden. Bei unseren Versuchen ergeben immerhin einige auch einen Umsatz bei Darmhomogenat (50 % der Versuche), während andere überhaupt keinen zeigen. Würden bei uns diese 50 % Versuche ausgewählt, so ergibt sich eine Umsatzquote 0,81. Wir möchten aber, wie es geschehen ist, höchstens eine Mittelwertbildung über alle Versuche zulassen. Dann ist aber die Bildung im Darm nicht mehr signifikant. Das gleiche kann auch bei den wenigen Versuchen der oben angezogenen Autoren vermutet werden, wobei es in der Versuchsanstellung schon als mangelhaft bezeichnet werden muß, daß das nicht umgesetzte β -Carotin nicht zurückbestimmt wurde.

Auch der Versuch von MORTON (5) besagt ja nur, daß der Darm Vitamin A-Aldehyd hydrieren kann, nicht aber, daß er tatsächlich β -Carotin spaltet.

Unsere Versuche können nur so ausgelegt werden, daß die Spaltung in vitro bevorzugt nicht durch den Dünndarm erfolgt, was in Übereinstimmung mit WILLSTAEDT (13) ist.

C) Leberhomogenate von Vitamin A-Mangeltieren

In der folgenden Tabelle 4 sind die Endergebnisse der Versuche mit Homogenaten von Mangeltieren angegeben.

Tabelle 4

Mole 10^{-8} 1 g angew.	β -Carotin Mole 10^{-8} 1 g 1 Std. umgesetzt		Rela- tiver Umsatz ϕ β -Car.	Vit. A Mol 10^{-8} /g Std. gebildet	Vit. A β -Car.
Gasphase: N_2 ; Lösungsmittel für β -Carotin: Paraffinöl					
5,4	1,0		0,19	0,00	0,00
3,0	0,7		0,23	0,00	0,00
Lösungsmittel für β -Carotin: Äthanol					
3,0	1,3		0,43	0,00	0,00
3,0	1,5		0,50	0,00	0,00
Gasphase: Luft Lösungsmittel für β -Carotin: Paraffinöl					
15,0	8,0		0,19	0,00	0,00
6,9	3,5		0,50	0,00	0,00
Lösungsmittel für β -Carotin: Äthanol					
5,0	2,0		0,40	0,00	0,00
2,3	0,8		0,35	0,00	0,00

Die Versuche ergeben eindeutig, daß eine Umwandlung bei Leberhomogenat von Mangeltieren nicht eintritt.

Es ist anzunehmen, daß das Enzym in diesen nicht zur Wirkung kommt.

Wir haben nunmehr eine Gruppe von Mangeltieren genommen und untersucht, ob nach einer Verfütterung von β -Carotin die Fähigkeit der Spaltung wiederkommt. Diese Versuche sind zwar zunächst informativ, Das, was uns interessierte, ergaben sie auf jeden Fall.

Tabelle 5

Periode Carotin fütt. bei Mangel- tieren in Tagen	β -Carotin angewendet Mole 10^{-7} pro g Le- ber	β -Carotin gefunden Mole 10^{-7} pro g Le- ber	β -Carotin umgesetzt Mole 10^{-8} pro g Le- ber u. Std.	Rel. Um- satz $\emptyset$ β -Car.	Vit. A gebild Mole 10^{-8} pro g Leb.u. Std.	Vit. A/ β -Cart. (umge- setzt)
8	1,32	1,10	2,20	0,17	5,2	2,3
8	1,32	1,09	2,30	0,17	4,2	1,8
14	0,43	0,35	0,80	0,19	1,2	1,5
14	0,43	0,30	1,30	0,30	2,0	1,5

Diese Versuche zeigen, daß nach mindestens acht Tagen die Fähigkeit zur Spaltung wieder vorhanden ist. Wahrscheinlich tritt dieser Effekt schon wesentlich früher ein, jedoch würde die Untersuchung dieses Vorganges eine eigene Arbeit erfordern. Von uns wurde die Angelegenheit nur am Rande behandelt. Da in der Zwischenzeit sich auch Herr Dr. NIESAR in unserem Institut mit Fragen der Umwandlung des β -Carotins beschäftigt, haben wir nicht die Absicht, dieses Gebiet weiter zu bearbeiten.

Wir haben in Zusammenhang mit dem Vorsagen der Spaltung bei Leber von Mangel-tieren einen Thyroxinzusatz zum Versuchsmaterial gegeben, da bekanntlich an-genommen wird, daß zwischen der Spaltung von β -Carotin und dem Mangel an Thyroxin ein Zusammenhang bestehen soll (14). Obgleich natürlich im leben-den Organismus die Verhältnisse ganz anders sein können und werden, war es nicht abwegig, einen informativen Versuch anzustellen. In Tabelle 6 sind die Werte für die jeweilige Leber mit und ohne Thyroxin angegeben. Eine Bildung von Vitamin A konnte in keinem Versuch gefunden werden. Ein direkter Einfluß von Thyroxin etwa als Aktivator eines Enzyms scheint zumindest unter unseren Bedingungen nicht vorhanden. Dies bedeutet jedoch nicht, daß Thyroxin nicht in Zusammenhang mit der Carotinspaltung steht. Man könnte sich Reaktionsfol-gen denken, bei denen das gleiche Enzym sowohl in der Thyroxinbildung wie in der Carotinspaltung eingreift. Wir haben vorher schon gesagt, daß die "Caroti-nase" ein oxydatives Ferment sein müßte. Würde es sich um eine Peroxydase han-deln, so könnte das Fehlen im Körper die Thyroxinbildung beeinflussen, wenn man annimmt, daß die J'-Oxydation über eine Peroxydase zu J erfolgt, das zur Bildung des Thyroxins notwendig ist. Die Stützung einer solchen Annahme be-

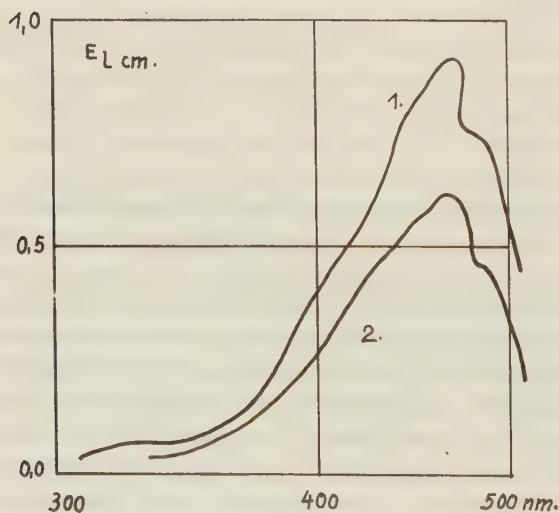
darf aber einer sehr eingehenden Untersuchung. Es ist daher die Bemerkung nur als Hinweis zu betrachten, nicht als eine irgendwie bestätigte Tatsache.

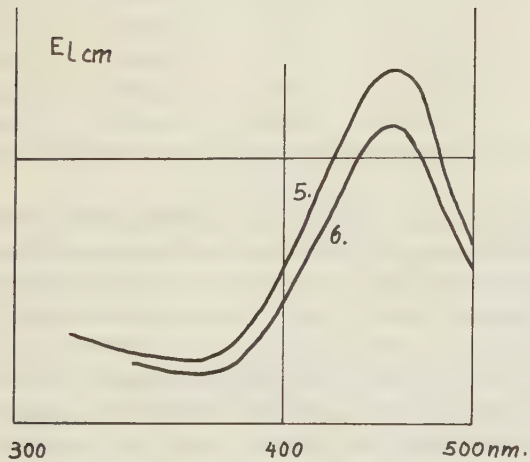
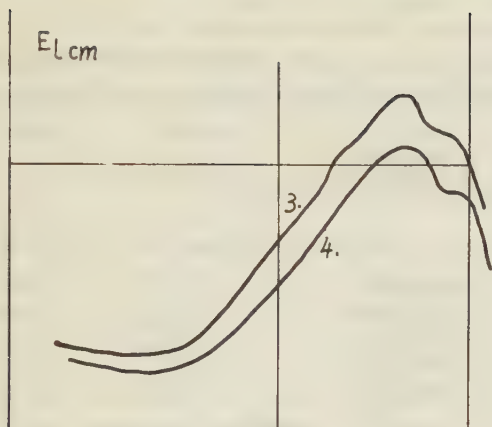
Tabelle 6

Leber von Mangeltieren

Zusatz Thyroxin			Ohne Zusatz			
10^{-8} Mole/ 1 g angewendet	β -Carotin 10^{-8} Mole/ 1 g. 1 Std. umgesetzt	ϕ	β -Carotin 10^{-8} Mole/ 1 g. 1 Std. umgesetzt	Rel. Um. β -Carot.	Vit. A gebil. mit Thy.	ohne Thy.
5,1	1,0	0,18	0,9	0,18	0	0
3,1	1,6	0,51	1,4	0,45	0	0
6,0	1,5	0,25	1,7	0,28	0	0
4,0	0,9	0,22	1,0	0,25	0	0

Thy = Thyroxin





D) Darmhomogenate von Vitamin A-Mangeltieren

In Tabelle 7 sind die Ergebnisse bei Dünndarmhomogenaten von Mangeltieren (Ratten) zusammengestellt. Die Versuche wurden zur Vervollständigung gemacht, obgleich von vorneherein kein positiver Ausgang zu erwarten war.

Tabelle 7
Dünndarm von Mangeltieren

Gas- phase	β -Carotin angewendet $\frac{10}{8}$ Mole 1 g 1 Std.	β -Carotin umgesetzt $\frac{10}{8}$ Mole 1 g 1 Std.	q	Vit. A ₋₈ $\frac{\text{Mol } 10}{\text{g Std.}}$	Vit. A/ β -Caro- tin
N ₂	3,0	1,4	0,48	0,00	0,00
N ₂	3,0	2,0	0,66	0,00	0,00
Luft	5,0	3,5	0,70	0,00	0,00
Luft	3,6	3,0	0,83	0,00	0,00
Luft	2,5	2,0	0,79	0,00	0,00
Luft	1,2	0,8	0,67	0,00	0,00
N ₂ (Ö1)	2,0	0,7	0,35	0,00	0,00
N ₂ (Ö1)	1,5	0,8	0,53	0,00	0,00

Unsere Versuche ergeben auch hier keine Umwandlung. Von WIESE, MEHL und DANIEL (5) wurde für dreistündige anaerobe Inkubation von Darmhomogenat von Mangeltieren eine Vitamin A-Bildung angegeben. Wir haben die Werte umgerechnet auf Mole und finden folgende Tabelle 8. Auch diese Versuche ergeben, wenn überhaupt, nur eine sehr geringe Spaltung von β -Carotin zu Vitamin A. Es muß allerdings offen bleiben, ob nicht in kürzester Zeit ein besserer Effekt zu erzielen wäre. Jedoch erscheint dies nach unseren Versuchen wohl nicht der Fall zu sein. Nach den üblichen J und J.E.-Angaben (wobei für β -Carotin stets J , für Vitamin A J.E. gesetzt werden), was zum Vergleich wenig zweckmäßig ist, möchte man vielleicht annehmen, daß der Darm günstig spaltet. Nach der richtigeren Molrechnung ergibt sich jedoch nur ein Umsatz in Vitamin A von im Mittel $\sim 3\%$ gegenüber $\sim 97\%$ Umsatz in anderer Richtung. Wenn bei einem biologischen Vorgang soviel eingesetztes Material verlustig geht, dann dürfte dieser Mechanismus biologisch nicht bevorzugt sein.

Tabelle 8

β -Carotin angewendet: $5,6 \times 10^{-7}$ Mole

β -Carotin gefunden ₋₈ Mole 10^{-8}	β -Carotin umgesetzt ₋₇ Mole 10^{-7}	$\varnothing$ rel. Umsatz β -Carotin	Vit. A gefunden ₋₈ Mole 10^{-8}	Vit. A/ β -Carotin
5,5	5,0	0,89	2,40	0,050
4,0	5,2	0,93	0,60	0,010
5,7	5,0	0,89	1,90	0,020
3,3	5,3	0,95	0,80	0,016
3,3	5,3	0,95	1,50	0,030
1,0	5,5	0,98	0,42	0,080
3,3	5,3	0,94	1,00	0,020
0,9	5,3	0,98	0,42	0,077
2,3	5,4	0,96	1,40	0,026

IV. Zusammenfassung

- 1.) Es wird gezeigt, daß in Gegenwart von Leberhomogenat von Normalratten β -Carotin in Vitamin A umgewandelt wird. Der Verbrauch des β -Carotins erfolgt bei einem Angebot von $< 10^{-8}$ Mole/g Leber zu 100 %, wenn dieses $> 10^{-8}$ Mole ist, wird der Umsatz steigend kleiner und erreicht bei 10^{-7} Mole/g Leber ~ 10 % in der Stunde.
- 2.) Der Umsatz zu Vitamin A, bezogen auf das umgesetzte β -Carotin, ergibt sich zu 2,1, wobei die Schwankungen in vertretbaren Grenzen liegen. Dies besagt, daß über einen oxydativen Mechanismus zwei Moleküle Vitamin A (wohl über Vitamin A-Aldehyd) aus einem Molekül β -Carotin entstehen. Dies ergibt einen an und für sich idealen Umsatz an der Leber.
- 3.) Es wird weiterhin gezeigt, daß an der Leber der Umsatz nach einer Stunde ein geeignetes Maß darstellt. Es werden für Leber ohne und mit Carotin der Verlauf des Vitamin A mit der Zeit gezeigt. Oberhalb einer Stunde tritt ein Abfall ein, wahrscheinlich weil das Enzym zerstört wird. Dies kann aus dem β -Carotinumsatz gefolgert werden, der oberhalb einer Stunde trotz hinreichenden Angebotes immer geringer wird.
- 4.) Mit Darmhomogenat wird signifikant keine Bildung von Vitamin A gefunden. Für Fütterungsversuche usw., die eine Bildung angeben, kann gezeigt werden, daß die Umsatzquote nur etwa 2 % des umgesetzten β -Carotins ist, d.h. viel zu wenig, als daß man hier ein geeignetes Organ im Darm sehen könnte. Auch für andere Darmversuche, die allerdings in den experimentellen Angaben nicht zureichend sind, wird gezeigt, daß die dort gefundene Umsatzquote, berechnet mit einem plausiblen β -Carotinumsatz, in keiner Weise optimal sind.
- 5.) Organhomogenat von Vitamin A-Mangeltieren (Leber-Darm) zeigen keine Umwandlungsfähigkeit. Nach Ernährung von Mangeltieren mit β -carotinhaltiger Kost erhält die Leber wieder die Fähigkeit zu spalten.
- 6.) Ein Zusatz von Thyroxin zu Leberhomogenat von Vitamin A-Mangeltieren ergibt nicht die Fähigkeit zur Spaltung.

V. Literaturverzeichnis

- 1) R.F. Hunter Chem. med. J. 61, 589 (1942)
E.M. Hume Nature 151, 535 (1943)

T.H. Mead Bioch. J. 33, 589 (1939)

S.W.F. Underhill

K.R. Coward

H. Wilkinson Bioch. J. 35, 824 (1941)
- 2) C.J. Koehn Arch. Bioch. 17, 337 (1948)
- 3) J. Glover Bioch. J. 43, 109 (1948)

T.W. Goodwin

R.A. Morton
- 4) R.F. Hunter J. chem. Soc. 554 (1945)

N.E. Williams

R. Goos Science 103, 375 (1947)

W.D. Mc. Farlan

E.C. Grob Angew. Chemie 67, 277 (1955)

R. Butler
- 5) K. Patzelt Klin. Wochschr. 19, 1251 (1940)

E. Schairer

H. Willstaedt Enzymologia 3, 228 (1937)

M.S. Olcott J. Biol. chem. 94, 185 (1931)

D.C. Mc. Cann

St. C. Pariente Proc. Soc. Etp. Biol. Med. 29, 1269 (1930)

E.P. Ralli

J.L. Rea Zeitschr. f. Vitaminf. 1, 177 (1932)

J.C. Drummond

D. Wilson Ind.J.Med.Res. 25, 85 (1937)

Majunder

J. Glover Biochem. J. 41, 94 (1947)

T.W. Goodwin 43, 512 (1949)

R.A. Morton

- G. Brazer
H.C. Curtis
Arch. Int. Med. 65, 90 (1940)
- T.W. Goodwin
B.A. Gregory
Biochem. J. 43, 505 (1948)
- F.H. Mottson
J.W. Mehl
H.J. Deuel
Arch. Bioch. 15, 65 (1947)
- E.L. Sexton
J.W. Mehl
H.J. Deuel
J. Nutrition 31, 299 (1946)
- R.M. Tomarelli
J. Charney
F.W. Bernhardt
Proc. Soc. Exp. Bioch. Med. 63, 108 (1946)
- C.E. Wiese
J.W. Mehl
H.E. Deuel
Arch. Bioch. 15, 75 (1947)
- J.R. Edisbury
R.A. Morton
G.W. Simpkins
J.A. Lovern
Bioch. J. 32, 118 (1938)
- 6) J. Brüggemann
W. Krauss
J. Tiews
Z.f.anal. Chem. 141, 172 (1954)
- 7) W. Krauss
H. Grund
Z. f. Elektrochemie 58, 142, 767 (1955)
- 8) J. Brüggemann
W. Krauss
J. Tiews
Z.f.anal. Chem. 137, 421 (1953)
- 9) J. Brüggemann
W. Krauss
J. Tiews
Z.f.anal. Chem. 141, 161 (1954)
- 10) W. Krauss
H. Caspers
erscheint Z.f. Elektrochemie

- 11) J. Brüggemann
W. Krauss
J. Tiews
Chem. B. 45, 315 (1952)
- 12) S.Y. Thompson
J. Ganguly
S.K. Kon
Brit. J. Nutr. 1, 400 (1947)
- 13) H. Willstaedt
Enzymologia 3, 228 (1937)
- 14) S. Kaplansky
R. Bassata
C. Wiese
W. Lowry J.R.
R.L. Johnson
C.A. Baumann
C.A. Baumann
F. Moore
V.A. Dill
V.A. Dill
A.P. Truant
Arch. Bioch. 26, 287 (1950)
J. Biol. Chem. 171, 513 (1947)
Bioch. J. 33, 1639 (1939)
Physiol. Reoue 23, 355 (1943)
Endocrinologie 40, 259 (1947)
- 15) H. Westermayer
Dissertation Tierärztl. Fakultät
München 1954
- 16) R.A. Morton
und Mitarbeiter
Biochem. J. 32, 118 (1938)
- 17) A. Rosenberg
A.E. Sobel
Arch. Bioch. Biophysics 44, 320 (1953)
- 18) J. Brüggemann
W. Krauss
J. Tiews
Z.anal.Chem. 141, 173 (1954)
- 19) Bessey
J. biol. Chem. 165, 177 (1946)
- 20) R.A. Morton
A. Stubbs
Analyst. 71, 348 (1946)
Biochem. J. 41, 525 (1947)
42, 195 (1948)

21) vergl. Dissertation H. Huber Tierärztliche Fakultät (1956)

vergl.

Z. Milchwissenschaft Jahrg. 10

J. Brüggemann

7, 223 (1955)

K.H. Niesar

22) H.J. Woelki

Dissertation Tierärztliche Fakultät (1956).

Lebenslauf

Ich, Arnold Kessler wurde am 14.7. 1928 in Edenkoben/Pfalz, als dritter Sohn des Gärtners Paul Kessler und dessen Ehefrau Anna Kessler, geb. Werst geboren.

Vom Jahre 1934 - 1939 besuchte ich in Edenkoben die Volksschule. Nach dem Schuljahrsschluß der fünften Klasse, Frühjahr 1939, trat ich in die dortige sechsklassige Oberschule über. Sommer 1944 wurde ich zum Kriegseinsatz "Westbefestigung" einberufen und mußte bis zum Kriegsende meine Schulzeit unterbrechen. Herbst 1945 setzte ich wieder mit dem Eintritt in die sechste Klasse der Oberrealschule in Neustadt a.d. Haardt meinen Schulbesuch fort und legte am Schuljahrsende der neunten Klasse am 8.10.1948 die Reifeprüfung mit Erfolg ab. Im Sommer 1950 bekam ich nach Ableistung eines vierteljährlichen Studenten-Ehrendienstes an der Tierärztlichen Fakultät der Universität München die Zulassung für das Wintersemester 1950/51 zum Studium der Tierheilkunde.

Nach dem bestandenem Tierärztlichen Staatsexamen und nach Ableistung des vorgeschriebenen Praktikantenhalbjahres erhielt ich am 19.3.1956 meine Bestallung als Tierarzt.

